

Figure 1

Sublancin Display Peptide

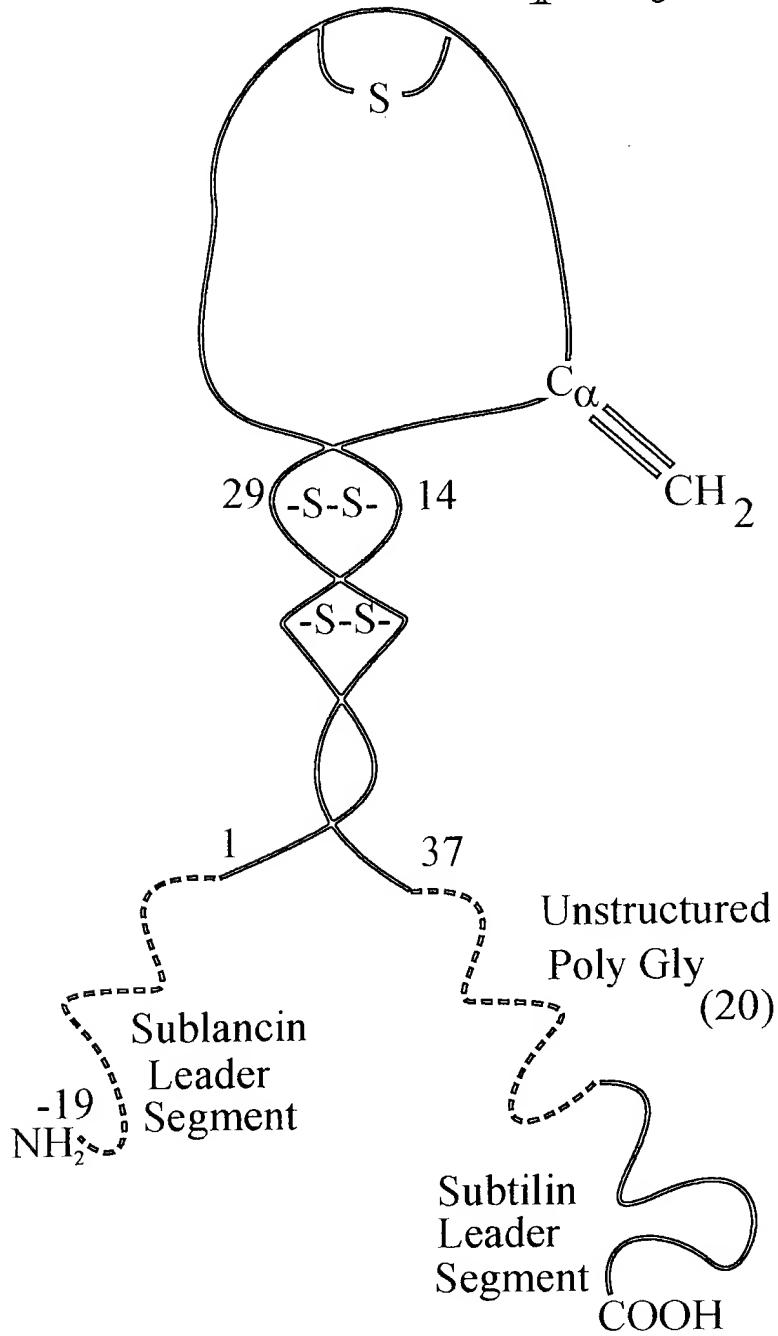


Figure 2

(2)

(3)

AGAAGTGTCTCAGTCACGTATCGAATATTGAGGATGATGTTAACAGCAGCTGAGTTATTGAAGTGG
 ATAATGAAAAGAGAAGGAAACTCGGTTTGTAAATGGATGGGATTAGAAGTAAATACGGCTCTAAAGCGAT
 LPHF1 --->
TCTGAGAGCAGTTCTTATACACCAGCAGGAACTCACGAGCTGGATTAAACAGGTGGGCATAAG
 AGTTAAAGATAAAATTAAACTTATATAACACATCGCTTAAAGTTTTGTTAAAAACTTAAAAACAT
 | -----> *yolF* ----->
 GGTAAAATTATATAAAAACATAAGAAAGAGTATTAT ATGGAATATGAGTTATGATAATCATTTTA
 GCACTTTCTTATTTTACTGTTCTCAAATACGTTATAGTTTGATGAAAATGCTTAGTCTAA
 AATTGGTTATCTAAACAGAAATTCCAATTAATCAAATAGTTAGTATTAAAGAGTCAGACAAGTATGG
 AGTTGCAGATAATATCGATTATAAAATTGGTATGCCATATGCTCAACCAAGATAGAATTGTTATTGAAACT
 <----- *yolF* ----->
ACAAATAAGCGTTCTAGTTTAAATGGAGCTCAACAATTATTCAAAAGTATAAAAGGGTTAGTG
 -- |
 TT TGAACATAAAAAGTACCTCTTACAATAGAAGGTACTTTTGATCTATAATTATAAAAATTAC
 CTAAATTTTATCATTATTAATTCAAATACCAATAAGTCAATTATTAGTGTATTACAACCAA
 <---LPHR1, (LPHF2, LPVF2 --->
TTCTGTTATTGATAGGTAATAAAGTTTTCTATGATTATGAACAAGTTCTTATAATTTCAAA
 -35 -10
AAAAAAATAAAAATGGTGAATTAGATTATCTCCTTATATTAAAAATGTAATCCGGATTGCAA
 r.b.s. | -----> *sunA* leader region ----->
ACAAATGGGGAGGTTTACAA ATGGAAAAGCTATTAAAGAAGTTAAACTAGAGGAACTCGAAACAAA
 <---LPHR2 <---LPVR2 NLPVF3 ----->
sunA mature region ----->
AAGGTAGT GGATTAGGAAAAGCTCAGTGTGCTGCGTTGTGGCTACAATGTGCTAGTGGCGGTACAATTGG
 <----- *sunA* -----> Pst I |
TTGTGGTGGCGGAGCTGGCTGTCAAAAC TATCGTCAATTCTGCAGA TAAAACATTGTAGAGGGAAT
 LPVF4 ---> LPHF3 --->
 <---LPPMR2
 | -----> *sunT* ----->
ATTTAAATATTCCCTCATATTAAAGCGGGATTGAAA TTGAATAAGAAAAGAAATATGTCATACTA
AACAGTTAATAGTCATGATTGTGGACTAGCTTGTATCTCGTCATTTAAAGTTCTAAACCTTAACTA
TGGAATTGATTCTTACTAGACCTAATTGGGATAAGGAAGGCTATAGTTAAGAGACTTAATTGTTATT
TTAAGAAGATGGGATAAAAATAGGCCACTTGAATTGCAAGAAAATAAGACATTGAAAGCCCTAAAC
AAATAAGCTCCCTGTATAGCTTGTAGAAGGGGAGGAATATGGACATTACATAACAATATACGAAAT
TAGAAATAACTATTTACTTGTAGTGTACCTGATAAAAGACAAAATAACTAAAATAAAAAAGAGGATTTT
GAAAGTAAATTACAAACTTTATATTAGAAATTGACAAAGAGTCATTCCTGAAAAAGAAAAGATCAA
AAAAACATTCTTACTTTTAAGGACATACTTTAGAAATAATTGATCGTTTGATTTATTGAC
TTCCTTGTTCGTTGTGGTCTGCTGTAGCTGGTCGTTTATATAAGTTCTAGTTGACCT----->
 <---LPHR3 & LPVR4 -----> *sunT* ----->

Figure 3

EcoRI

pTZ sequence <-----GAATTCCGGCTCTAAAGCGAT

TCTGAGAGCAGTTCTTACACCAAGCAGGAACACTGCACTCAACGAGCTGGATTAACAGGTGGCATAAG

AGTTAAGATAAAATTAACTTATATAACACATCGCTAAAGTTTTGTTAAAACCTAAAAACAT

GGTAAAATTATATAAAAACATAAGAAAGAGTGATTATGGAATATGTAGTTATGATAATCATTTATTA

GCACCTTTCTTATTTTACTGTTCTAAACACGTTAGTTGATGAAAATGCTTAGTCTAA

AATTGGTTATCTAAAACAGAAATTCAAATAATCAAATAGTTAGTATTAAGAGTCAGACAAGTATGG

AGTTGCAGATAATATCGATTATAAAATTGGTATGCCATATGCTAACCAAGATAGAATTGTTATGAAACT

ACAAATAAGCGTTCTAGTTTAAATGGAGCTAACAAATTATTCAAAGTATAAAAGGTTAGTG

TTGAACATAAAAAGTACCTCTAACATAGAAGGTACTTTTGATCTATAATTATTAAAATTTAC

CTAAATTATTCATTATTAATTCAAATAATCCATAATAGTCATTTATTTAGTGTATTACAACCAA

Bam HI (~900 bp) Bam HI

TTC GGATCC <-----cat-----> GGATTCGTGTATTACAACCAATTCTGTTATTGATAGGTAATAAA

GTTCCTATGATTATGAACAAGTTCTTATAATTTCAAA

AAAAAAATAAAAATATGGTGAATTAGATTATCTCTTATATTAAAAAAATGTAATCCGGATTGCAA

| Sublancin leader -----> Xho I

ACAAATGGGGAGGTTTACAA **ATGGAAAAGCTATTAAAGAAGTTAAACTCGAGGAACCTCGAAAACCAA**

| Sun A ----->

AAGGTAGT GGATTAGGAAAAGCTCAGTGTGCTGCCTGTGGCTACAATGTGCTAGTGGCGGTACAATTGG

Pst I |

TTGTGGTGGCGGAGCTGTTGCTTGTCAAAACTATCGTCAATTCTGCAGA TAAAACATTGTAGAGGGAAT

ATTTAAATATCCCTCATATTAAAGCGGGGATTGAAATTGAAATAAGAAAAGAAATATGTCATAACTA

AACAGTTAATAGTCATGATTGGACTAGCTTGTATCTCGTCAATTAAAGTTCTATAACCTTAACCTA

TGGAATTGATTCTTACTAGACCTAATTGGGATAAGGAAGGCATAGTTAAGAGACTTAATTGTTATT

TTAAGAAGATGGGATAAAAACTAGGCCACTTGAATTGCAAGAAAATAAGACATTGAAGCCCTAAAC

AAATAAGCTCCCTGTATAGCTTGTAGAAGGGAGGAATATGGACATTACATAACAATATCGAAAT

TAGAAATAACTATTTACTTGTAGTGTGATCTGATAAAAGACAAAATAACTAAAATAAAAAGAGGATT

GAAAGTAAATTCAAAACTTATATTAGAATTGACAAAGAGTCATTCCTGAAAAGAAAAGATCAA

AAAACATTCTTACTTTAAGGACATACTTTAGAAATAATTGATCGTTTGATTTATTGAC

TTCCTGTTGCTGTGGGTCTGCTGAAGCTT----->pTZ sequence

HindIII

Figure 4

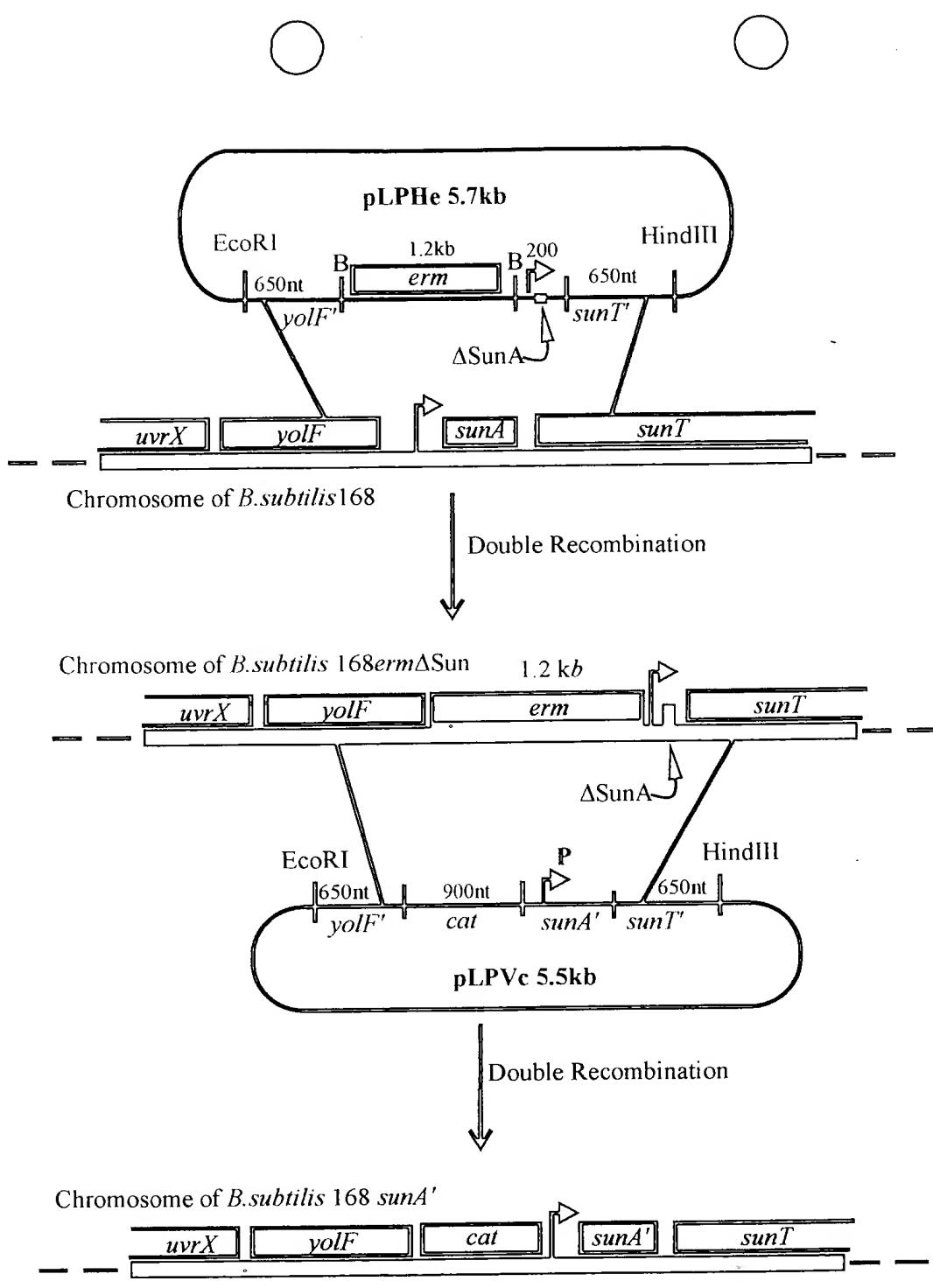
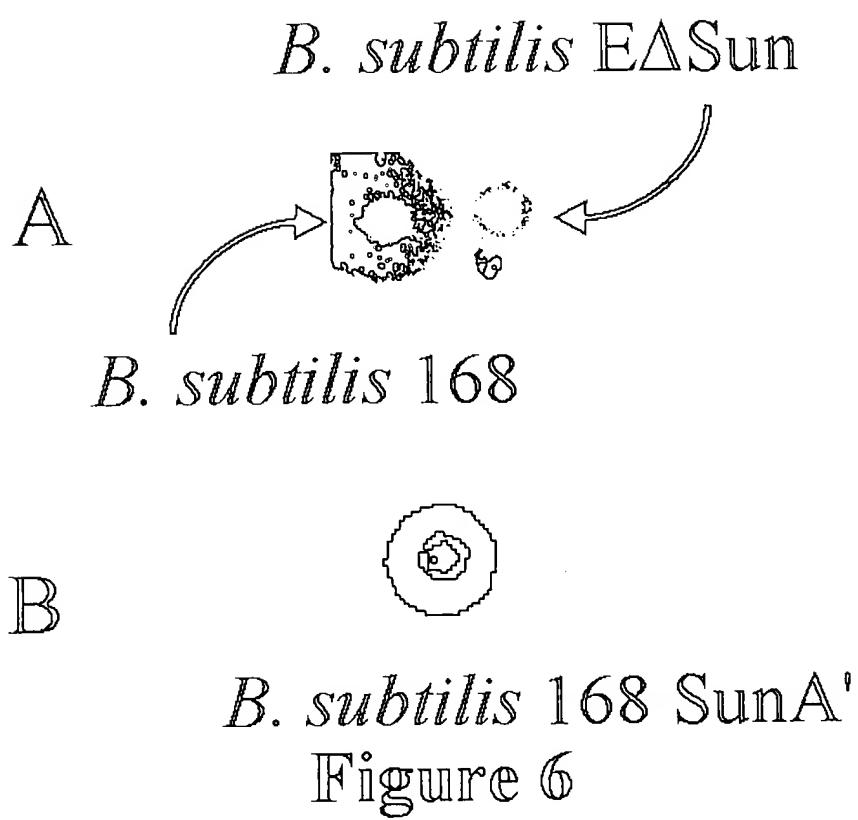


Figure 5



← pLPcat Sublancin leader →
 TTGCAAACAAATGGGGAGGGTTTACAA ATGGAAAAGCTATTAAAGAAG
 MetGluLysIlePheLysGluV

XbaI sublancin prep-
 TTAAACTCGAGGAACTCGAAAACCAAAAGGTAGT GGATTAGGAAAAGC
 AlLysLeuGluGluLeuGluAsnGluLysGlySer GlyLeuGlyLysAl

tide →
 TCAGTGTGCTGCGTTGCTACAATGTGCTAGTGGCGGTACAATTGGTT
 aGlnCysAlaAlaLeuTrpLeuGlnCysAlaSerGlyGlyThrIleGlyC

KasI Poly-
 GTGGTGGCGGCCGTTGCTTGTCAAAACTATCGTCAATTCTGTAGAGGT
 ysGlyGlyGlyAlaValAlaCysGlnAsnTyrArgGlnPheCysArgGly

glycine20 → BseRI
 GGTGGTGGGGGAGGCGGGGAGGGGGTGGTGGTGGAGGGAGGTGGTGGTGG
 GlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGly

subtilin leader → XbaI
 TGGTGGTATGTCAAAGTTCGATGATTCGATCTAGATGTTGTGAAAGTCT
 yGlyGlyMetSerLysPheAspAspPheAspLeuAspValValLysValS

Stop PstI
 CTAAACAAGACTCAAAATCACTCCGCAATAGAGTCCTGCAGAATAAAACA
 erLysGlnAspSerLysIleThrProGln * pLPcat →

Figure 7

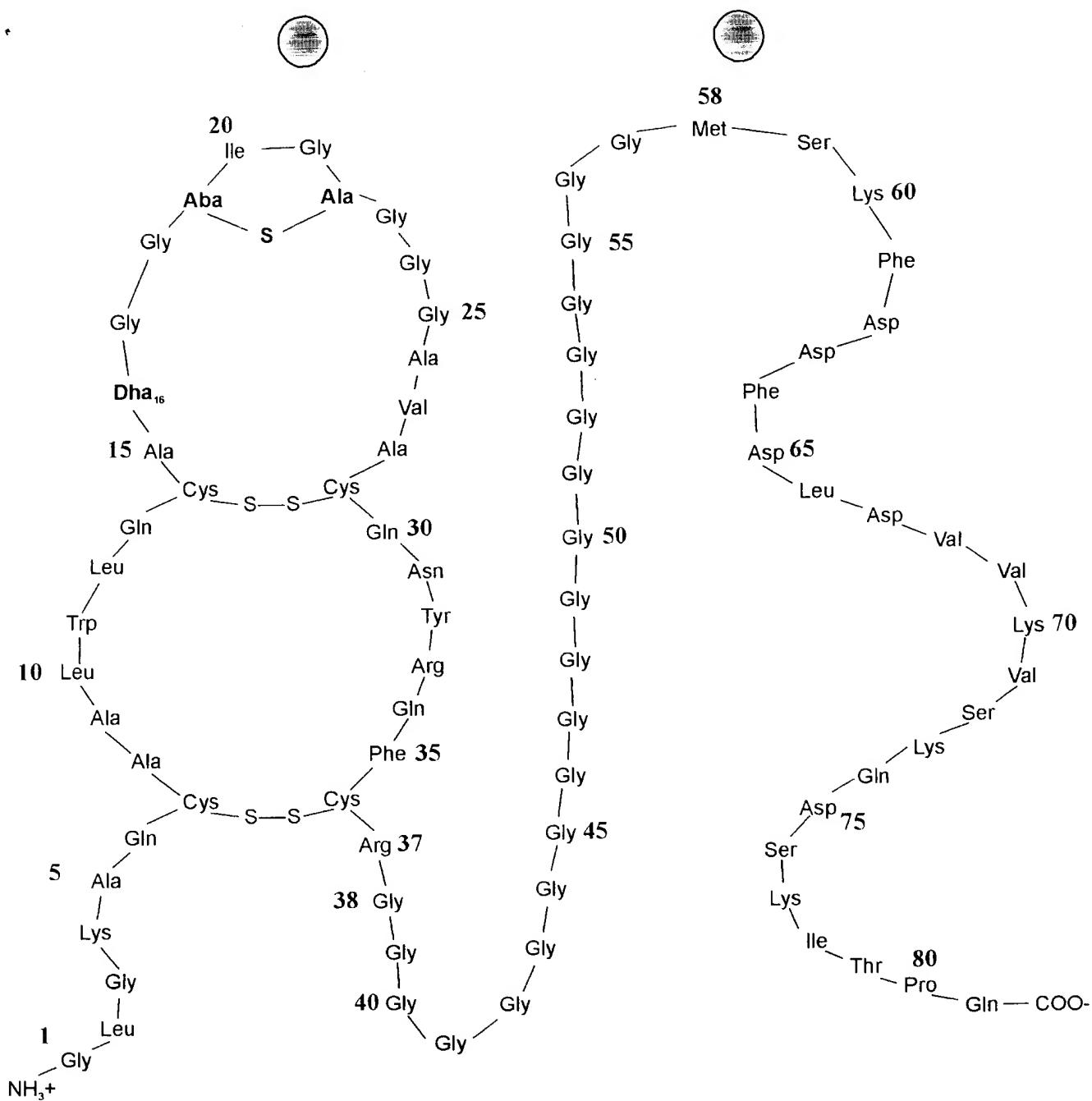


Figure 8